

P1-13-6 子宮内膜および子宮内膜症組織における Hand2 発現解析

名古屋大

森 正彦, 岩瀬 明, 齋藤 愛, 大須賀智子, 近藤美佳, 杉田敦子, 中村智子, 巴雅蘇拉, 中原辰夫, 高橋秀憲, 後藤真紀, 吉川史隆

【目的】Hand2 (Heart and neural crest derivatives expressed transcript 2) は, bHLH 型転写因子であり, 心臓の発生や分化に関与するとされている. またマウスの子宮内膜間質細胞において, プロゲステロンにより発現が増加し, 間接的に子宮内膜上皮細胞の増殖抑制を調節する因子であることが報告されており, 子宮内膜および子宮内膜症組織における Hand2 発現の相違に着目し, 子宮内膜症と Hand2 発現の関連について報告する. 【方法】卵巣子宮内膜症性嚢胞の間質細胞 (CSC) および子宮内膜症患者正所性子宮内膜間質細胞 (e-ESC) と, 非子宮内膜症正所性子宮内膜間質細胞 (ESC) におけるそれぞれの Hand2 発現レベルを検討し, さらに卵巣子宮内膜症性嚢胞組織と正所性子宮内膜組織に対し免疫染色を施行した. なお本研究は, 倫理委員会の承認を得た上で行っている. 【成績】CSC, e-ESC, ESC に対し RT-PCR において Hand2 発現を認めた. それぞれに対し, ホルモンを添加していない (Ctl) 群, 17β エストラジオール (E2) を加えた (E+) 群および E2 およびプロゲステロン, cAMP を加えた (EPA+) 群に対し, Realtime RT-PCR を行ったところ, ESC では Ctl 群や E+ 群に比べて EPA+ 群で Hand2 発現レベルが上昇した. CSC では反対に, Ctl 群に比べて E+ 群や EPA+ 群で Hand2 発現レベルは低下する傾向を示した. また免疫染色では卵巣子宮内膜症性嚢胞組織の間質部分と子宮内膜間質部分に Hand2 染色を認めた. 【結論】子宮内膜症組織においては, Hand2 発現の調節が正所性子宮内膜と異なる可能性が考えられた. 今後は, 内膜症間質に発現する Hand2 が, 子宮内膜と同様に上皮の増殖等に影響を及ぼしているかどうか探索していく予定である.

P1-13-7 フィブリンゲル 3 次元培養システムを用いた子宮内膜症 in vitro モデルの超微形態学的研究とその応用

埼玉医大

梶原 健, 菊地真理子, 鈴木元晴, 岡垣竜吾, 板倉敦夫, 石原 理

【目的】フィブリンゲル 3 次元培養システムにおいて形成される構築物を超微形態学的に観察する事により, 子宮内膜症モデルとしての有用性を形態学的に検討するとともに, 現在子宮内膜症の治療薬として広く用いられている Dienogest の効果について本モデルを用いて検討した. 【方法】同意を得た患者の子宮から内膜組織を細切した後フィブリンゲル内で培養した. 培養細胞の状態を経時的に観察し, 構築された構造物の透過型電子顕微鏡による観察も行った. また Dienogest を添加し, その影響を調べた. 【成績】培養開始 1 週間は子宮内膜組織片 (explant) から間質細胞が遊走しフィブリンゲル内に invasion するのが観察された. 2 週目には explant に隣接した部位および離れた部位の両方に細胞集塊 (endometrial glands) が観察された. 超微形態学的観察を行うと, 細胞の頂端面に微絨毛がみられ, 基底面には基底膜が観察され, その細胞間には細胞間結合装置が認められ, 子宮内膜症の腺管構造に類似した超微形態構造を示していた. 6 週目には血管に類似した管腔構造が観察された. explant から遊走した間質細胞により占有される area は Dienogest を添加する事により, 濃度依存性に縮小した. アポトーシス細胞の出現に対する影響を検討した所, Dienogest は濃度依存性に explant から遊走した細胞のアポトーシスを誘導した. 【結論】本ヒト子宮内膜症 in vitro モデルは, 超微形態学的にも子宮内膜症に類似した特徴を有し, 組織再生・細胞間相互作用を検討する目的に有用なモデルになり得ると思われる.

P1-13-8 子宮内膜症における DNA methyltransferase (DNMTs) 発現に関する検討

ノースウェスタン大¹, 千葉大²柿沼敏行¹

【目的】子宮内膜症の発症や進展において, 特定の遺伝子 promoter 領域の DNA メチル化異常により, それらの遺伝子発現異常が認められ, エピジェネティクスの関与が示唆されている. 一方, 子宮内膜間質細胞は, 脱落膜化といわれる卵巣性ステロイドの作用により誘導される子宮内膜の周期性変化により, ダイナミックな形態および機能的変化が認められる. DNA メチル化は DNA methyltransferase (DNMTs) により修飾および維持され, 遺伝子発現の制御機構の一つとして重要な役割を果たすことが知られている. 本研究の目的は, 卵巣子宮内膜症性嚢胞壁と正所性子宮内膜から分離した間質細胞の脱落膜化における DNMTs 発現の変化を比較検討することである. 【方法】本研究は IRB の承認のもと, 患者の同意を得て行われた. 子宮内膜症を有さない患者の子宮内膜から分離培養した子宮内膜間質細胞 (E-IUM), 卵巣子宮内膜症性嚢胞壁から分離培養した間質細胞 (E-OSIS) をサンプルとして用い, それらを medroxyprogesterone acetate, estradiol, 8-Br-cAMP を添加して 14 日間培養して脱落膜化を誘導した. DNMTs (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B) の発現を RT-PCR 法および Western blotting 法により評価した. 【成績】E-IUM では脱落膜化により DNMT3B の発現が減少するのに対して, E-OSIS ではその変化を認めなかった. DNMT1, DNMT3A においては, 両群間において脱落膜化による変化は認められなかった. 【結論】子宮内膜症細胞の脱落膜化における DNMT3B 発現異常が, 本症の発生や進展に関与している可能性が示唆された.